Aus dem Institut für Parasitologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. J. Boch

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE MÖGLICHKEIT DER BEEINFLUSSUNG LATENTER TOXOPLASMAINFEKTIONEN BEI NMRI-MÄUSEN DURCH IMMUNSUPPRESSIVA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Claus Centurier
Tierarzt aus Kosten
Berlin 1970
Journal Nr. 713

Aus dem Institut für Parasitologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. J. Boch

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE MÖGLICHKEIT DER BEEINFLUSSUNG LATENTER TOXOPLASMAINFEKTIONEN BEI NMRI-MÄUSEN DURCH IMMUNSUPPRESSIVA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Claus Centurier
Tierarzt aus Kosten
Berlin 1970
Journal Nr. 713

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. J. Boch
Referent: Prof. Dr. J. Boch
Korreferent: Prof. Dr. F. Hörchner

Tag der Promotion: 10. Juli 1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Die Wirkung immunsuppressiver Substanzen auf Toxoplasma-Infektionen (anhand der Literatur)	2
	1. Wirkung auf frische Infektionen ...	2
	2. Wirkung auf latente Infektionen ...	5
III.	Eigene Untersuchungen	
	A. Material und Methodik	8
	B. Ergebnisse	
	1. Anwendung von Dexamethason und Paramethasonazetat	12
	2. Anwendung von Cyclophosphamid ..	15
	3. Anwendung von Azathioprin	17
	4. Anwendung von Antilymphozytenserum (ALS)	19
IV.	Besprechung der Ergebnisse	23
V.	Zusammenfassung	26
	Summary	27
VI.	Literaturverzeichnis	28
	Lebenslauf	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546511_0018

I. Einleitung

Über den Einfluß von immunsuppressiven Substanzen auf experimentelle Toxoplasma-Infektionen bei Mäusen, Ratten, Hamstern und Kaninchen sind schon eine Reihe von Veröffentlichungen erschienen. Die meisten Arbeiten beschäftigen sich mit der Wirkung dieser Pharmaka auf frische Infektionen sowie auf die Ausbildung einer Immunität. Nur vereinzelt finden sich Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der latenten Toxoplasma-Infektion und chronischen Toxoplasmose durch Immunsuppressiva.

Ich erhielt daher von Herrn Prof. Dr. J. Boch die Aufgabe, den Einfluß von verschiedenen immunsuppressiven Substanzen auf experimentelle Toxoplasma-Infektionen bei Mäusen zu prüfen. Insbesondere sollte eine etwaige unterschiedliche Wirkung auf latente Infektionen mit virulenten bzw. avirulenten Stämmen untersucht werden.

II. Die Wirkung immunsuppressiver Substanzen auf Toxoplasma-Infektionen (anhand der Literatur)

Immunsuppressive Pharmaka sind gegen eine sich entwickelnde oder bestehende Immunität gerichtet. Über die Art der Immunität bei Toxoplasma-Infektionen herrschte lange Unklarheit. Zwar hatten SABIN und FELDMAN (1948)nachgewiesen, daß die Toxoplasmen durch Antiserum in vitro zerstört werden, doch gelang es nicht, durch die Zufuhr von Antiserum einen wesentlichen Schutz gegen Toxoplasmose oder gar eine Heilung der Krankheit zu erreichen (WILDFÜHR, 1957). Erst durch die Untersuchungen von FRENKEL (1967) wurde gezeigt, daß die Immunität gegen Toxoplasmen vom zellulären Typ ist. Es gelang ihm durch die Übertragung von Lymphknoten- oder Milzzellen immuner Hamster auf nicht immunisierte, diese gegen Toxoplasmose zu schützen.

1. Wirkung auf frische Infektionen

ERICHSEN und HARBOE (1953) versuchten, die Isolierung von Toxoplasmen aus einer Organsuspension eines gestorbenen Kükens mit Hilfe von Kortisonazetat zu erleichtern. 1o der Versuchsmäuse erhielten nur die Organsuspension i.p., 1o weitere Mäuse Organsuspension und Kortisonazetat 5 mg s.c. am Tag der Inokulation und weitere 5 mg am folgenden Tag. Bei den mit Kortison behandelten Mäusen zeigte sich nach 13 Tagen vermehrt muköses Peritonealexsudat mit vielen Trophozoiten, während bei den unbehandelten Mäusen nur geringes Exsudat mit wenigen Toxoplasmen auftrat. Weiterhin fanden die Autoren (1955), daß der Sabin-Feldman-Test (SFT) bei 4 mit Kortison behandelten Mäusen nur auf Titer von 1:1o bis 1:4o anstieg, bei 7 nicht behandelten Kontrollen Titer von 1:1o bis 1:4oo erreichte. Bei den ersten Passagen war die Virulenz dieses aus dem Küken isolierten Stammes für Mäuse niedrig. Nach 6 Passagen über kortisonbehandelte Mäuse war seine Virulenz für unbehandelte Mäuse genau so hoch wie für

die behandelten. Die Autoren schlossen daraus auf eine Virulenzsteigerung durch Kortisonbehandlung.

HAVLIK und Mitarb. (1955) kamen zu einem anderen Ergebnis. Nach ihren Untersuchungen konnte durch eine Behandlung mit Kortisonazetat, 1,25 mg bzw. 5,0 mg pro Maus s.c. am Tag der Inokulation sowie an den beiden folgenden Tagen, die Virulenz ihres Toxoplasmastammes auch nach 14 Passagen nicht geändert werden. Ihr Stamm war jedoch ohnehin schon recht virulent, da die Mäuse zwischen dem 4. und 8. Tag nach der Beimpfung starben. Auch eine Ausdehnung der Kortisontherapie vom 2. Tag vor der Infektion bis zum 6. Tag danach erbrachte keine anderen Ergebnisse.

Auch JACOBS und FELTON (1953) konnten bei der Untersuchung eines für Mäuse avirulenten Stammes keine eindeutigen Ergebnisse erzielen. Sie behandelten die Mäuse täglich vom 3. Tag vor der Infektion an mit 0,25 mg bzw. 1,0 mg Kortison s.c. Diese Dosis erwies sich allerdings bei den nicht infizierten Kontrollen als so toxisch, daß keine Aussage über seine Wirkung auf den klinischen Verlauf der Toxoplasmose gemacht werden konnte. Ein gewisser Unterschied fand sich jedoch bei der Untersuchung der spät nach der Infektion gestorbenen Tiere. Während normalerweise die mit diesem Stamm infizierten Tiere an einer Enzephalitis starben und sich in den übrigen Organen nur vereinzelt Toxoplasmen feststellen ließen, wurden bei den kortison-behandelten Mäusen sehr viele Toxoplasmen in der Leber und der Milz gefunden. Bei einem weiteren Versuch mit demselben Toxoplasmastamm verabreichten sie je 2 mg Kortison am Tage vor, am Tage der Infektion und 3 Tage danach. Hier zeigte sich, daß die Sterblichkeit der kortison-behandelten Mäuse nach der Toxoplasma-Infektion erheblich erhöht war.

KAUFMAN (1960) untersuchte die Wirkung von Hydrokortison auf den Verlauf der Toxoplasmose bei Kaninchen nach intraokulärer Infektion mit dem Beverley-Stamm. Bei den infizierten und nicht behandelten Tieren entwickelten sich schwere

Augenveränderungen, doch traten keine Todesfälle auf. Kaninchen, die täglich 1 mal 25 mg bzw. 50 mg Hydrokortison s.c. vom Infektionstag an erhielten, zeigten nur geringe Augenveränderungen, verendeten aber innerhalb von 14 Tagen an einer akuten Toxoplasmose.

Einen weiteren Versuch mit einem avirulenten Stamm nahmen GIROUD und Mitarb. (1962) vor. Sie infizierten Ratten i.p. mit dem B 12-Stamm und behandelten sie anschließend 5 Tage lang mit 2 mg oder 20 mg Dehydrokortikosteron bzw. mit 2 mg Prednisolon s.c. Aus jeder Gruppe starb ein Fünftel der Tiere. Bei einigen überlebenden Ratten wurde ein Hydrops ascites und Splenomegalie festgestellt.

Den Einfluß von Kortison und Zymosan auf die Dauer der Parasitämie untersuchten METZGER und Mitarb. (1963). Sie infizierten Ratten mit dem virulenten RH-Stamm und behandelten sie 5 Tage lang, beginnend mit dem Tag der Infektion, mit Kortison bzw. Zymosan. Die Parasitämie wurde auf 12 bis 28 Tage verlängert gegenüber 4 bis 10 Tagen bei den Kontrollen. Keine der Ratten starb.

Auf der Suche nach einer Methode, durch Immunsuppression die Isolierung von Toxoplasmen zu erleichtern, untersuchten KEAN und KIMBALL (1966) die Wirkung der Zytostatika 6-Mercaptopurin (6-MP) und Azathioprin sowie von Kortisonazetat. Bei 6-MP und Azathioprin zeigte sich kein Effekt, während nach der Gabe von Kortisonazetat die Parasiten zahlreicher in Erscheinung traten.

STAHL und Mitarb. (1966) infizierten Mäuse mit dem avirulenten Beverley-Stamm und behandelten sie vom Tage der Infektion an entweder mit 3 mal 1 mg Kortisonazetat pro Maus i.m. im Abstand von 2 Tagen oder 11 Tage lang mit 1 mg 6-MP i.m. täglich. Sie fanden, daß nach der Behandlung Trophozoiten bis zum 25. bzw. 23. Tag, bei den unbehandelten Kontrollen dagegen nur bis zum 15. Tag im Peritonealexsudat nachzuweisen waren. Auch die Sterblichkeitsrate stieg erheblich an. Nach 4 Wochen waren 80% der mit

Kortison behandelten Tiere sowie 90% der 6-MP Tiere, jedoch nur 15% der Kontrollen gestorben. Die Überlebenden der behandelten Mäuse zeigten im Gegensatz zu den Kontrollen 28 Tage nach der Beendigung der Behandlung keine Immunität gegenüber einer Reinfektion mit dem virulenten RH-Stamm.

2. Wirkung auf latente Infektionen

Den Effekt einer Kortisonbehandlung auf eine latente Toxoplasmainfektion bei Kaninchen bei einer gleichzeitigen Reinfektion untersuchte HULDT (1966). Sie stellte fest, daß Kortison (12,5 mg/kg KGW 10 Tage lang) keinen Effekt auf die bestehende Immunität hatte.

Versuche an Mäusen mit latenter Infektion beschrieben JACOBS und MELTON (1953). Sie behandelten Mäuse, welche die Inokulation mit einem avirulenten Stamm 7 Wochen überlebten, täglich mit 0,125 mg bzw. 0,25 mg Kortison s.c. 17 Tage lang. Der Zustand der Mäuse blieb dabei unverändert.

FRENKEL gelang es 1956, Hamster latent mit einem virulenten Stamm zu infizieren, indem er sie in den ersten Wochen nach der Infektion unter medikamentellen Schutz stellte. Diese Tiere, die sich gegen eine Reinfektion immun erwiesen, wurden über längere Zeit mit Kortisonazetat behandelt. Sie starben an einer durch Toxoplasmen verursachten Enzephalitis und einer konfluierenden Pneumonie.

In einer weiteren Arbeit berichtete FRENKEL (1957) über den Einfluß von Kortisonazetat, Ganzkörperbestrahlung und Stickstofflost, sowie Kombinationen dieser Mittel auf eine latente Infektion mit dem RH-Stamm bei Goldhamstern. Nur die Kombination von 2,5 mg Kortisonazetat s.c. und Ganzkörperbestrahlung (100 r, 250 kV) einmal pro Woche unterdrückte signifikant die erworbene Immunität und erlaubte die Proliferation der Toxoplasmen.

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte FRENKEL (1960) mit

Kortisonazetatbehandlung allein, indem er mit dem RH-Stamm latent infizierten Hamstern 2 mg/Tag 6 mal wöchentlich s.c. verabreichte. Diese Tiere starben durchschnittlich nach 22, die Kontrollen erst nach 35 Tagen.

KAUFMAN (1960) behandelte Kaninchen, die auf beiden Augen eine latente Toxoplasma-Infektion (Beverley-Stamm) hatten, täglich mit 25 mg Hydrokortison. Es zeigte sich keine Reaktivierung der Infektion, kein Tier starb.

Über die Wirkung von Antilymphozytenserum auf eine ruhende Augeninfektion (Beverley-Stamm) beim Kaninchen berichteten O'CONNOR und NOZIK (1968). Sie erreichten durch die i.v. Injektion von Pferde-Anti-Kaninchen-Lymphozytenserum eine Reaktivierung der intraokulären Entzündung, die sie ophthalmoskopisch und histopathologisch nachweisen konnten.

Welche Bedeutung dem Einfluß immunsuppressiver Substanzen auf die Toxoplasma-Infektion beim Menschen zukommt, mögen die drei folgenden Fälle zeigen. BERNARD und Mitarb. berichteten 1962 von einer 12jährigen Patientin mit akuter Leukämie. Das Kind wurde zunächst 3 Wochen lang mit Methotrexat und Prednisolon behandelt. Nach Auftreten von Fieber, Hämorrhagien und Hämaturie wurde die Therapie mit Antibiotika und 6-Mercaptopurin fortgesetzt. 11 Tage später starb die Patientin an einer akuten Toxoplasmose, die histopathologisch nachgewiesen wurde. CHEEVER und Mitarb. (1965) teilten über einen Patienten mit Lymphogranulomatose folgendes mit: Der Kranke wurde mit Prednison und Zytostatika (Stickstofflost, Cyclophosphamid, Thio-tepa, Vincristin) behandelt sowie bestrahlt. Meist wurden mehrere Therapeutika gleichzeitig verwandt. Eine vorherige Untersuchung auf Toxoplasma-Infektion mit dem Toxoplasmin-Hauttest und dem SFT verlief negativ. Der Patient verstarb, nachdem vorher zentralnervöse Störungen aufgetreten waren, an einer akuten Toxoplasmose und Herpes-Pneumonie. Toxoplasmen wurden in der Herzmuskulatur und im Gehirn nachgewiesen. Die Autoren vermuteten, daß diese Komplikationen durch die Therapie mit immunsuppressiven Mitteln

zustande kam und die Toxoplasma-Infektion während der Behandlung erfolgte.

Welche Gefahren die immunsuppressive Therapie bei Organtransplantationen in sich bergen kann, zeigt die Veröffentlichung von REYNOLDS und Mitarb. (1966). Einem 20jährigen Patienten wurde eine Niere eingepflanzt, anschließend erfolgte 14 Tage lang eine immunsuppressive Behandlung. Eine vor der Operation durchgeführte serologische Untersuchung verlief negativ. Ab 22. Tag p.o. zeigten sich jedoch positive SFT- und KBR-Titer und am 25. Tag starb der Patient an einer akuten Toxoplasmose. Toxoplasmen konnten mit Ausnahme der transplantierten Niere in allen Organen nachgewiesen werden. Da der Organempfänger in strenger Isolation gehalten worden war, schlossen die Autoren eine frische Infektion aus. Da auch bei Abwesenheit eines Antikörpertiters eine latente Infektion vorhanden sein kann, vermuteten sie, daß durch die Immunsuppressiva eine latente Toxoplasma-Infektion manifest wurde.

Auf Grund dieser bisher veröffentlichten Arbeiten läßt sich zusammenfassend sagen, daß Kortison bei der akuten Toxoplasmose die Sterblichkeit erhöht, die Isolierung von Toxoplasmen erleichtert, den Aufenthalt der Parasiten in der Bauchhöhle sowie die Parasitämie verlängert. Die Ausbildung einer Immunität wird verhindert. Die Wirkung des Kortisons auf latente Toxoplasma-Infektionen ist noch unklar.

Zytostatika scheinen bei der frischen Infektion die Parasitämie sowie den Aufenthalt von Trophozoiten im Peritonealexsudat zu verlängern, während ein Einfluß auf die latente Infektion nicht nachgewiesen werden konnte.

Antilymphozytenserum wurde bisher lediglich in seiner Auswirkung auf die latente Toxoplasma-Infektion am Auge untersucht. Hier zeigte sich eine Reaktivierung der Infektion.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Als Versuchstiere verwendete ich 1608 überwiegend weibliche NMRI-Mäuse aus der institutseigenen, toxoplasmafreien Zucht. Die Tiere wogen bei Versuchsbeginn ca 20g. Sie erhielten Altromin, Standard-Diät für Mäuse, sowie Wasser ad libitum und wurden in Makrolonkäfigen in vollklimatisierten Räumen gehalten.

Für meine Versuche wählte ich insgesamt 7 vom Menschen und verschiedenen Tierarten stammende virulente und avirulente Toxoplasmastämme. Es sollte damit überprüft werden, ob Toxoplasmastämme unterschiedlicher Virulenz oder Herkunft sich bei immunsuppressiver Behandlung gleich- oder verschiedenartig verhalten.

Virulent für Mäuse sind der aus dem Menschen isolierte BK-Stamm (WINSSER und Mitarb., 1948), der ebenfalls vom Menschen stammende L-Stamm (Für die Überlassung dieses Stammes danke ich Herrn Prof. Piekarski, Bonn), sowie der im Institut aus einem gesunden Schlachtschwein angezüchtete Stamm S 93. Alle drei Stämme töten Mäuse in 6-9 Tagen und bilden in dieser Tierart normalerweise keine Zysten.

Avirulent und zystenbildend sind die im Institut isolierten Stämme Ka 1 (5. Passage) vom Kaninchen, Sf 23/22 (8. Passage) vom Schaf und Ktz 1983 (10. Passage) von der Katze. Eine gewisse Mittelstellung hinsichtlich der Virulenz für Mäuse nimmt der im Institut aus einem Hund isolierte Stamm Hd 1312 ein, von dem ich die 25. Passage benutzte. Dieser Stamm ist zwar zystenbildend, doch ruft er bei Mäusen klinische Erscheinungen (struppiges Haar, Apathie, zentralnervöse Störungen) und bis zu 50% Todesfälle innerhalb von 20 Tagen nach der Infektion hervor. Danach verenden nur noch gelegentlich einzelne Tiere.

Als Infektionsmaterial diente bei den virulenten Stämmen das toxoplasmenhaltige Peritonealexsudat von Passage-Mäusen, das mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde. Jede Maus erhielt 5000 Trophozoiten in 0,5 ml Exsudatverdünnung i.p.. Die Infektion mit den avirulenten Stämmen erfolgte durch i.p. Injektion einer zystenhaltigen Gehirnsuspension. Vom Stamm Hd 1312 erhielt jede Maus 1/25 Gehirn in 0,4 ml physiologischer Kochsalzlösung, von den übrigen Stämmen 1/10 Gehirn im gleichen Flüssigkeitsvolumen.

Um eine latente Infektion bei den mit virulenten Stämmen infizierten Mäusen zu erhalten, behandelte ich die Mäuse 10 Tage lang täglich, beginnend mit dem Tag nach der Infektion, mit Pyrimethamin 0,02 mg/Maus und Tag in 0,3 ml physiol. Kochsalzlösung und Sulfadiazin 0,3 mg/Maus und Tag im gleichen Volumen (HECHT, 1970). Die Medikamente wurden gemischt oral mit der Sonde appliziert. Das Vorliegen einer latenten Infektion wurde durch mikroskopischen Zystennachweis im Gehirn oder durch Hirnpassagen kontrolliert.

Da in der immunsuppressiven Therapie Pharmaka der verschiedensten Wirkungsweisen angewandt werden, versuchte ich, durch die Auswahl gruppentypischer Substanzen ein breites Wirkungsspektrum zu erfassen. Aus der Gruppe der Kortikosteroide nahm ich (9α-Fluor-16α-methyl-prednisolon) Dexamethason (für die Überlassung der Substanz danke ich der Fa. Schering AG) und Paramethasonazetat (6α-Fluor-16α-methyl-prednisolon-21-azetat). Das Dexamethason wurde den Mäusen oral 20 Tage lang, in Dosen von täglich 0,1 mg bzw. 1,0 mg/kg KGw suspendiert in 10%-iger Gummiarabikumlösung, 0,5 ml/Maus mit der Sonde appliziert. Paramethasonazetat lag in Form von Monocortin-Depot® Kristallsuspension (Fa. Chemie Grünenthal CMBH.) vor. Die Suspension wurde zu gleichen Teilen mit 20%-iger Gummiarabikumlösung verdünnt. Den Mäusen, die vorher 0,1 mg/kg KGW Dexametha-

son erhalten hatten, wurde eine einmalige Dosis von 1 mg s.c. verabreicht. Zwischen dem Ende der Dexamethasonbehandlung und der Monocortingabe lag ein Zwischenraum von 4 Wochen.

Cyclophosphamid (N,N-Bis-(2-chloraethyl)-N',O-propylenphosphorsäureester-diamid, Endoxan® der Fa. Asta-Werke AG) war der Vertreter aus der Gruppe der sogenannten alkylierenden Substanzen. Es wurde einmal in einer Dosis von 200 mg/kg KGW in physiol. Kochsalzlösung gelöst i.p. verabreicht. Nach einer Wartezeit von 36 Tagen wurden die Mäuse einer zweiten Behandlung unterworfen. Diesmal erhielten sie 10 Tage lang täglich 20 mg oder 40 mg/kg KGW i.p. jeweils in 0,5 ml Lösungsmittel pro Maus.

Aus der Reihe der Antimetaboliten wählte ich Azathioprin (6-[(1-Methyl-4-nitro-5-imidazolyl)thio]purin, Imurel®, für die Überlassung der Reinsubstanz danke ich der Fa. Deutsche Wellcome GmbH). Es wurde als Na-Salz in physiol. Kochsalzlösung gelöst 20 Tage lang täglich in einer Dosierung von 20 mg bzw. 60 mg/kg KGW oral gegeben.

Schließlich verwandte ich auch Antilymphozytenserum (ALS), das ich nach der von LEVEY und MEDAWAR (1966) beschriebenen Methode herstellte. 4 Wochen alten NMRI-Mäusen wurden unter sterilen Kautelen die Thymi entnommen, grob zerkleinert und über ein Sieb mit 45 µ Maschenweite in sterile, heparinhaltige Tyrodelösung gegeben. Anschließend wusch ich die Thymozyten dreimal mit Tyrodelösung und resuspendierte sie in einem kleinen Volumen. Weiße Neuseeland-Kaninchen aus institutseigener Zucht erhielten von dieser Zellsuspension 2x2 ml im Abstand von 14 Tagen i.v., ca. 5×10^8 - $7{,}5 \times 10^8$ Zellen pro Injektion. Eine Woche nach der 2. Injektion wurden die Kaninchen entblutet. Die gewonnenen Sera mischte ich, inaktivierte sie 30 Minuten bei 56°C, filtrierte sie steril und lagerte sie bis zum Gebrauch bei -20°C.

Um zu kontrollieren, ob ein eventueller Effekt auf die

toxoplasmainfizierten Mäuse nicht schon von normalem Kaninchenserum (NKS) ausgeht, behandelte ich eine Gruppe von Mäusen mit NKS, das ebenfalls bei 56°C inaktiviert und steril gefiltert worden war.

In einem Vorversuch spritzte ich jeweils 5 Mäusen ALS oder NKS o,5 ml i.p. zweimal in einem Abstand von 3 Tagen, um die Wirkungen der Sera auf das periphere Blutbild zu prüfen. Eine Stunde vor und 7 Tage nach der ersten Injektion wurde den Mäusen Blut aus der Schwanzvene entnommen, ein Differentialblutbild gemacht und die Gesamtzahl der Leukozyten pro mm^3 Blut bestimmt (Tab. 1).

Am 7. sowie am 1o. Tag nach der ersten Injektion erhielten die Tiere je weitere o,5 ml ALS bzw. NKS, um die Toxizität der Sera zu prüfen. Sie erwiesen sich in dieser Dosierung nicht als toxisch. Im Hauptversuch zeigte sich jedoch eine gewisse Toxizität, als o,5 ml ALS viermal im Abstand von drei Tagen gegeben wurden. Daher absorbierte ich 4 Teile ALS an 1 Teil dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschener Mäuse-Erythrozyten zunächst 6o Minuten bei 37°C und anschließend 12 Stunden bei 4°C.

Injektion von	ALS		NKS	
	vor	nach	vor	nach
Gesamtleukozytenzahl	10 180	11 280	10 16o	12 400
Lymphozyten	7 040	4 150	8 51o	8 45o
Leukozytenrest	3 140	7 13o	1 65o	3 95o

Tab. 1: Durchschnittliche Zahl der Gesamtleukozyten sowie Lymphozyten pro mm^3 vor und 7 Tage nach der Injektion von ALS und NKS

Die Versuchsmäuse wurden entsprechend den Substanzarten in 4 Versuchsgruppen aufgeteilt, die sich wiederum , gemäß der Zahl der verwandten Toxoplasmastämme, in 7 Untergruppen unterteilten. Jede dieser Untergruppen umfaßte etwa 25 Tiere. Wurden zwei Dosierungen angewandt, waren die Gruppen halb so groß.

Mit der immunsuppressiven Behandlung begann ich zwischen dem 3o. und 4o. Tag nach der Infektion, da von den unter medikamentellem Schutz mit virulenten Stämmen infizierten Mäusen bis zum 25. Tag ein Teil an akuter Toxoplasmose starb. Zur Kontrolle wurden auch nicht infizierte Mäuse, sowie nicht infizierte, jedoch mit Sulfadiazin und Pyrimethamin vorbehandelte Tiere mit Immunsuppressiva behandelt.

B. Ergebnisse

1. Anwendung von Dexamethason und Paramethasonazetat

In den ersten der 4 Versuchsreihen untersuchte ich den Einfluß von Dexamethason auf die latente Toxoplasma-Infektion. Während bei den zystenbildenden, avirulenten Stämmen die Infektion bei der Maus normalerweise latent verläuft, bewirkte ich bei den mit den 3 virulenten Stämmen infizierten Tieren einen latenten Verlauf durch eine 1o-tägige Therapie mit Sulfadiazin und Pyrimethamin im Anschluß an die Inokulation. Da diese Behandlung mit einer subtherapeutischen Dosis erfolgte (HECHT, 197o), wurde bei einem Teil der Versuchstiere die Infektion unmittelbar nach dem Absetzen des Medikaments wieder akut. Um auszuschließen, daß dieser Effekt die Versuchsergebnisse beeinflußt, begann ich mit der Dexamethasonbehandlung der überlebenden Tiere erst am 35. Tag p.i.. Zu diesem Zweck teilte ich die Tiere in zwei gleichstarke Gruppen mit je 117 Tieren (s. Tab. 2). Die erste Gruppe behandelte ich mit 0,1 mg, die zweite mit 1,0 mg/kg KGW Dexamethason täglich oral 20 Tage lang. Während dieser Zeit starben vom BK-

Toxoplasma Stamm		Zahl der Tiere infiziert	Zahl der Tiere bis 35. Tag gestorben	Dexamethason (20 Tage oral) Dosis mg/kg/Tag	Zahl der Mäuse	Während und nach der 1. Behandlung gestorben	Zahl der nach der 2. Behandlung (1x1 mg Parametasonazetat/Maus) gestorbenen	Kontrolle der latenten Inf. nach Versuchsende pos.	neg.
virulent	L	30	12	1,0	9	0		9	0
				0,1	9	0	0	9	0
	BK	30	10	1,0	10	2(2)		9	1
				0,1	10	0	0	10	0
	S 93	30	14	1,0	8	0		8	0
				0,1	8	1	0	6	2
avirulent	Ktz 1983	20	0	1,0	10	0		10	0
				0,1	10	0	0	10	0
	Ka 1	20	0	1,0	10	0		10	0
				0,1	10	3(3)	0	10	0
	Sf 23/22	20	0	1,0	10	0		10	0
				0,1	10	0	0	10	0
	Hd 1312	24	4	1,0	10	9(1)		10	0
				0,1	10	1	7	10	0
	Hd 1312	14	4	1,0	10	1		10	0
Kontrollen	vorbehandelt	10	0	1,0	5	1		0	5
				0,1	5	0	0	0	5
	nicht vorbeh.	10	0	1,0	5	0		0	5
				0,1	5	0	1	0	5

Tab. 2: Der Einfluß von Kortikosteroiden (Dexamethason und Parametasonazetat) auf latente Toxoplasmainfektionen mit virulenten und avirulenten Stämmen bei Mäusen (Zahl der während der Behandlung durch Fehlapplikation des Medikaments gestorbenen Mäuse ist in Klammern angegeben)

Stamm 2 (1,0 mg) und vom Kal drei (0,1 mg) Mäuse , sowie eine vom Stamm Hd 1312 (1,0 mg) durch Fehlapplikation des Medikaments.

In der sich anschließenden vierwöchigen Beobachtungszeit verendete vom Stamm S 93 (0,1 mg) eine von 8 Mäusen (Kachexie und ein kirschgroßer Abszeß an der Brustwand, der schon zu Beginn der Kortisonbehandlung bestanden hatte) und vom Stamm Hd 1312 (0,1 mg) eine von 1o Mäusen, 8 von 1o Tieren des Stammes Hd 1312 (1,0 mg), sowie eine von 5 mit Sulfadiazin und Pyrimethamin vorbehandelten nicht infizierten Kontrollen (1,0 mg). Die Untersuchung der Peritonealflüssigkeit auf Toxoplasmen verlief bei allen gestorbenen Tieren negativ, jedoch ließen sich mit Ausnahme der Kontrolle Zysten im Gehirn nachweisen.

Um den Effekt des Dexamethasons auf eine latente Infektion mit dem Stamm Hd 1312 wiederholt festzustellen, behandelte ich eine weitere Gruppe von 10 mit diesem Stamm infizierten Mäusen mit 1,0 mg Dexamethason. Diesmal starb nur ein Tier während der Behandlung.

28 Tage nach Beendigung der Dexamethasonzufuhr erhielten die 74 überlebenden Mäuse, die mit nur 0,1 mg Dexamethason vorbehandelt worden waren und keine Reaktion gezeigt hatten, eine einmalige Dosis 1,0 mg Monocortin-Depot® (Paramethasonazetat) Kristallsuspension pro Maus s.c.. Mit Ausnahme von 7 von 9 mit dem Stamm Hd 1312-infizierten Mäusen, die vom 3. bis 13. Tag nach der Applikation des Medikaments verendeten, überlebten alle Tiere reaktionslos (Tab. 2). Im Peritonealexsudat der gestorbenen Tiere fand ich keine Toxoplasmen, jedoch bei allen Tieren Zysten im Gehirn.

Zum Nachweis einer latenten Infektion der mit virulenten Stämmen infizierten Mäuse passagierte ich nach Versuchsende deren Gehirne, um anhand der verendeten Passagemäuse die Zahl der latent infizierten Tiere festzustellen. Die Gehirne der mit avirulenten Stämmen infi-

zierten Versuchstiere untersuchte ich zu demselben Zweck auf Zysten. Bis auf drei Tiere (1 vom BK-, 2 vom S 93-Stamm) und die Kontrollen konnte eine latente Infektion nachgewiesen werden (Tab. 2).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Kortikosteroide lediglich bei Mäusen, die latent mit dem Stamm Hd 1312 infiziert waren, eine Aktivierung der Infektion bewirkten . Dieses Ergebnis erwies sich jedoch als nicht reproduzierbar.

2. Anwendung von Cyclophosphamid

In der zweiten Versuchsreihe sollte die Wirkung der alkylierenden Substanz Cyclophosphamid auf die latente Toxoplasma-Infektion festgestellt werden. Die Latenz wurde auf gleichem Wege erreicht, wie bei der Dexamethason-behandelten Gruppe. Die erste Applikation von Cyclophosphamid (Endoxan®) erfolgte am 37. Tag p.i.. Jede Maus erhielt eine einmalige Dosis von 2oo mg/kg KGW i.p.. Eine Maus von Hd 1312-Stamm sowie eine nicht vorbehandelte Kontrolle starben innerhalb von 7 Tagen nach der Verabfolgung des Medikaments. In den folgenden 4 Wochen verendete kein Tier mehr.

35 Tage nach der ersten Behandlung wurden die Mäuse für eine zweite Behandlung in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe (85 Tiere) erhielt 20 mg, die andere (92 Tiere) 4o mg /kg KGW Cyclophosphamid 10 Tage lang täglich i.p. Die Zahl der während und bis zu 25 Tagen nach der Behandlung verendeten Tiere betrug insgesamt 17 (Tab. 3). Es starben sowohl infizierte als auch nicht infizierte Mäuse. Die infizierten Mäuse, die während der Cyclophosphamidbehandlung starben, waren in die Bauchhöhle verblutet, während die nicht infizierten und nicht vorbehandelten Kontrollen (4o mg Cyclophosphamid) Zeichen einer allgemeinen Infektion aufwiesen. Toxoplasmen liessen sich bei den Kontrollen weder im Peritonealexsudat

Toxoplasma Stamm		Zahl der Tiere infiziert	bis 36.Tag gestorben	1.Behandlung (1x200mg/kgKGW) Zahl der Tiere behandelt	gestorben	2.Behandlung mit Cyclophosphamid (10 Tage lang i.p.) Dosis mg/kg/Tag	Zahl der Tiere behandelt	während und nach der Behandlung gestorben	Kontrolle der latenten Inf. nach Versuchsende pos.	neg.
virulent	L	30	10	20	0	20	10	1(1)	10	0
						40	10	1	10	0
	BK	30	7	23	0	20	11	2	11	0
						40	12	5	12	0
	S 93	30	9	21	0	20	10	0	10	0
						40	11	2	11	0
avirulent	Ktz 1983	25	0	25	0	20	12	1(1)	12	0
						40	13	0	13	0
	Ka 1	25	0	25	0	20	12	0	12	0
						40	13	0	13	0
	Sf 23/22	25	0	25	0	20	12	0	12	0
						40	13	0	13	0
	Hd 1312	25	5	20	1	20	9	1(1)	10	0
						40	10	0	10	0
Kontrol.	vorbehandelt	10	0	10	0	20	5	0	0	5
						40	5	0	0	5
	nicht vorbeh.	10	0	10	1	20	4	0	0	5
						40	5	4	0	5

Tab. 3: Der Einfluß von Cyclophosphamid auf latente Toxoplasmainfektionen mit virulenten und avirulenten Stämmen bei Mäusen (Zahl der während der Behandlung in die Bauchhöhle verbluteten Mäuse ist in Klammern angegeben)

noch durch Passagen nachweisen.

Aus beiden Gruppen starb eine ralativ große Zahl der mit dem BK-Stamm infizierten Mäuse. Da jedoch aus einer Kontrollgruppe von 5 ebenfalls mit dem BK-Stamm gleichzeitig latent infizierten Tieren 2 in demselben Zeitraum verendeten, ohne mit Immunsuppressiva behandelt worden zu sein, ist der Tod der Tiere wohl nicht auf Cyclophosphamid zurückzuführen. Weder bei diesen noch bei den übrigen nach der Behandlung gestorbenen Tieren traten vor dem Tode Krankheitszeichen auf. Bei allen ließen sich Zysten im Gehirn nachweisen, jedoch keine Trophozoiten im Peritonealexsudat. Die Gesamtzahl der latent infizierten Tiere dieser Gruppe findet sich in Tab. 3. Durch Cyclophosphamid konnte somit eine latente Toxoplasmainfektion nicht beeinflußt werden.

3. Anwendung von Azathioprin

In der dritten Versuchsreihe überprüfte ich die Wirkung von Azathioprin auf die latente Toxoplasmainfektion. Zu Beginn der Behandlung am 34. Tag wurden die latent infizierten Mäuse auf zwei Gruppen verteilt. Den 104 Tieren der ersten applizierte ich 20 mg, den 103 der zweiten 60 mg/kg KGW/Tag 20 Tage oral mit der Sonde (Tab. 4). Aus der mit täglich 20 mg/kg KGW Azathioprin behandelten Gruppe verendete eine Maus des S 93-Stammes an Kachexie. Von den Mäusen der 2. Gruppe, die 60 mg/kg KGW erhalten hatten, starben zwischen dem 16. Tag der Behandlung und dem 12. Tag nach Behandlungsende 60 bis 85% einschließlich der Kontrollen an Abmagerung und anämischen Erscheinungen. Trophozoiten konnten im Peritonealexsudat nicht gefunden werden. Offenbar sind die Mäuse an einer toxischen Dosis des Medikaments eingegangen (Tab. 4). Eine Aktivierung der latenten Infektion konnte durch Azathioprin nicht erreicht werden.

Toxoplasma Stamm		Zahl der Tiere infiziert	bis 33. Tag gestorben	Azathioprin (2o Tage lang oral) Dosis mg/kg/Tag	Zahl der Tiere behandelt	während und nach der Behandlung gestorben	Kontrolle der latenten Inf. nach Versuchsende pos.	neg.
virulent	L	30	2	20	14	0	14	0
				60	14	10	13	1
	BK	30	8	20	11	0	11	0
				60	11	8	11	0
	S 93	30	4	20	13	1	11	2
				60	13	11	12	1
avirulent	Ktz 1983	30	0	20	15	0	15	0
				60	15	10	15	0
	Ka 1	30	0	20	15	0	15	0
				60	15	11	15	0
	Sf 23/22	30	0	20	15	0	15	0
				60	15	8	15	0
	Hd 1312	30	9	20	11	0	11	0
				60	10	7	10	0
Kontrol.	vorbehandelt	10	0	20	5	0	0	5
				60	5	3	0	5
	nicht vorbeh.	10	0	20	5	0	0	5
				60	5	3	0	5

Tab. 4: Der Einfluß von Azathioprin auf latente Toxoplasmainfektionen mit virulenten und avirulenten Stämmen bei Mäusen

4. Anwendung von Antilymphozytenserum (ALS)

Um den Effekt von Antilymphozytenserum (ALS) auf die latente Infektion mit Toxoplasmen zu untersuchen, wurden nach einer Vorbereitungszeit von 36 Tagen zwei Gruppen von 78 bzw. 82 Mäusen gebildet. Die eine behandelte ich mit ALS, die andere mit normalem Kaninchenserum (NKS). Jede Maus erhielt viermal im Abstand von 3 Tagen 0,5 ml Serum i.p.. Infolge der Injektion verbluteten einige Tiere in die Bauchhöhle. Auffällig war, daß ein großer Teil der mit ALS behandelten Mäuse aller Gruppen schon nach der ersten und zweiten Applikation starb. Dies ist wohl auf die Toxizität des Serums zurückzuführen, da es nicht an Erythrozyten absorbiert worden war und noch hämolytische Eigenschaften aufwies. In der Bauchhöhle dieser Versuchstiere ließen sich keine Trophozoiten nachweisen, während bei denen, die nach der 3. und 4. Injektion verendeten, Aszites von 0,5 bis 3,5 ml mit zahlreichen Trophozoiten vorhanden war. Daneben stellte ich schwere Veränderungen der Leber und Milz, verbunden mit starker Milzschwellung fest. Trophozoiten und Organveränderungen traten nur bei den mit virulenten Stämmen L, BK und S 93 sowie bei den mit dem Stamm Hd 1312 infizierten Mäusen auf (Tab. 5). Einige der mit avirulenten Stämmen infizierten Tiere zeigten eine Umfangsvermehrung des Abdomens, die jedoch nach 8 bis 10 Tagen wieder zurückging.

Um die toxische Nebenwirkung des ALS auszuschließen, wiederholte ich den Versuch an einer weiteren Gruppe von 78 Mäusen mit an Mäuseerythrozyten absorbiertem ALS (Tab. 6). Todesfälle durch die toxische Wirkung des Serums traten nicht mehr auf. Erst nach der 3. und 4. Behandlung starben alle latent mit virulenten Stämmen sowie die mit dem Stamm Hd 1312 infizierten Mäuse. Zahlreiche Trophozoiten fanden sich im vermehrten Peritonealexsudat bei den mit virulenten Stämmen angesteckten Mäusen,

Toxoplasma Stamm		Zahl der Tiere infiziert	Zahl der Tiere bis 36.Tag gestorben	ALS bzw. NKS 4x im Abstand von 3 Tg. i.p. Dosis 0,5 ml	Zahl der behandelten Tiere	Zahl der gestorbenen Tiere nach der ...Behandlung 1.	2.	3.	4.	Kontrolle der latenten Inf. nach Versuchsende pos.	neg.
virulent	L	30	13	ALS	9		1	4	3(2)	7	2
				NKS	8					7	1
	BK	30	5	ALS	13	6	1	6		12	1
				NKS	12					10	2
	S 93	30	11	ALS	10	6		3	1	9	1
				NKS	9					8	1
avirulent	Ktz 1983	20	0	ALS	10	3	1		3(3)	10	0
				NKS	10				2(2)	10	0
	Ka 1	20	0	ALS	10	2				10	0
				NKS	10					10	0
	Sf 23/22	20	0	ALS	10	3	1			10	0
				NKS	10					10	0
	Hd 1312	25	6	ALS	10	4	1		5	10	0
				NKS	9			1(1)		9	0
Kontrol.	vorbehandelt	10	0	ALS	5	1	1			0	5
				NKS	5					0	5
	nicht vorbeh.	10	0	ALS	5	1	1			0	5
				NKS	5		1(1)			0	5

Tab. 5: Die Wirkung von Antilymphozytenserum (ALS) und normalem Kaninchenserum (NKS) auf latente Toxoplasmainfektionen mit virulenten und avirulenten Stämmen bei Mäusen (Zahl der während der Behandlung in die Bauchhöhle verbluteten Mäuse ist in Klammern angegeben)

vereinzelte bei den Hd 1312-Tieren. Die Lebern waren brüchig und wie die geschwollenen Milzen von nekrotischen Herden durchsetzt. Bei einem Teil der mit den avirulenten Stämmen Ktz 1983, Ka 1 und Sf 23/22 infizierten Mäusen trat Aszitesbildung auf (0,5 – 5,0 ml), jedoch konnten Organveränderungen und Trophozoiten nicht nachgewiesen werden. Bei den nicht getöteten Tieren bildete sich der Aszites wieder zurück. Die 10 Kontrollen blieben durch die ALS-Behandlung unbeeinflußt.

Um den Unterschied in bezug auf die Überlebenszeit der frisch mit Toxoplasmen der 3 virulenten Stämme infizierten sowie den ALS-behandelten Mäusen aufzudecken, inokulierte ich je 20 Mäusen je 5000 Trophozoiten der Stämme L, BK und S 93 i.p.. Nach durchschnittlich 7,4 Tagen starben die L-, nach 8,2 Tagen die BK- und nach 8,1 Tagen die S 93-infizierten Mäuse. Nach gleicher Zeit verendeten die Passagemäuse, die in den ersten drei Versuchsreihen mit Gehirnsuspensionen der Überlebenden der latent mit virulenten Stämmen infizierten Mäuse beimpft wurden. Die mit ALS behandelten Tiere starben dagegen durchschnittlich 9,8 (L-Stamm), 9,3 (BK-Stamm) und 10,5 Tage (S 93-Stamm) nach der ersten ALS Injektion. Mäuse die nach einer frischen Infektion mit dem Stamm Hd 1312 verendeten, starben frühestens am 8., durchschnittlich aber am 11. Tag, während die latent mit diesem Stamm infizierten und mit ALS behandelten durchschnittlich 14,3 Tage nach der ersten Serumgabe eingingen.

Mit ALS konnte also eine latente Infektion mit virulenten Stämmen sowie mit dem avirulenten Stamm Hd 1312 reaktiviert werden, auf eine latente Infektion mit den übrigen avirulenten Stämmen hatte das Serum dagegen keinen Einfluß.

Toxoplasma Stamm		Zahl der Tiere infiziert	bis 36.Tag gestorben	Zahl der behandelten Tiere	0,5ml ALS 4x im Abstand von 3 Tagen i.p. Zahl der gestorbenen Tiere nach der ... Behandlung 1.	2.	3.	4.	Kontrolle der latenten Inf. nach Versuchsende pos.	neg.
virulent	L	15	4	11			5(1)	5	10	1
	BK	15	6	9			5	3	8	1
	S 93	15	4	11	1(1)		5	5	11	0
avirulent	Ktz 1983	10	0	10	1(1)				10	0
	Ka 1	10	0	10					10	0
	Sf 23/22	10	0	10					10	0
	Hd 1312	10	3	7	1(1)			6	7	0
Kontr.	vorbehandelt	5	0	5					0	5
	nicht vorbeh.	5	0	5					0	5

Tab. 6: Der Einfluß von an Mäuseerythrozyten absorbiertem ALS auf latente Toxoplasmainfektionen bei Mäusen (Zahl der während der Behandlung in die Bauchhöhle verbluteten Mäuse ist in Klammern angegeben)

IV. Besprechung der Ergebnisse

Das Ziel meiner Untersuchungen war die Klärung der Frage, ob und in welchem Umfang sich eine bei einer latenten Toxoplasmainfektion bestehende Prämunität durch verschiedene Immunsuppressiva beeinflussen läßt.

Während es FRENKEL (1956, 1957 und 1960) gelang, durch Kortisonazetat allein sowie in Verbindung mit Röntgenbestrahlung eine latente Toxoplasmainfektion mit einem virulenten Stamm beim Hamster zu reaktivieren, mißlang dies bei einer latenten Infektion mit einem avirulenten Stamm sowohl JACOBS und MELTON (1953) bei der Maus als auch KAUFMAN (1960) beim Kaninchen. Mit den von mir benutzten Dosierungen der Kortikosteroide Dexamethason (oral) und Paramethasonazetat (s.c.) war es nicht möglich, die Immunität bei latenten Infektionen mit den virulenten Stämmen L, BK und S 93 sowie den avirulenten Ktz 1983, Ka 1 und Sf 23/22 zu unterdrücken und so die Infektion zu aktivieren.

Zu einem nicht eindeutigen Ergebnis führte die Kortikosteroidbehandlung bei dem Stamm Hd 1312. Dexamethason bewirkte, daß einmal 8 von 10 mit diesem Stamm angesteckte Mäuse starben, während bei der Wiederholung des Versuchs von 10 nur eine verendete. Es kann angezweifelt werden, ob die Tiere tatsächlich an einer Toxoplasmose eingingen, da keine proliferativen Toxoplasmaformen gefunden wurden. Dem steht entgegen, daß der Trophozoitennachweis im Peritonealexsudat der mit diesem Stamm infizierten und spontan gestorbenen Versuchsmäuse auch nicht immer gelingt. Auch ist nicht anzunehmen, daß ausgerechnet während oder nach der Behandlung so viele Mäuse spontan verendet sind. Ich neige zu der Ansicht, daß die Infektion mit dem Stamm Hd 1312, die meist subakut bis chronisch verläuft, nur eines geringen Anstoßes bedarf, um in eine akute Erkrankung umgewandelt zu werden. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse läßt sich

das aber nicht mit Gewißheit sagen. Noch stärker ist bei dem zweiten verwandten Kortikosteroid Paramethasonazetat in Zweifel zu ziehen, ob es in der Lage ist, die latente Hd 1312-Infektion akut werden zu lassen. Zwar starben nach der Behandlung 7 von 9 Mäusen, doch auch hier liessen sich keine Toxoplasmen im Peritonealexsudat finden. Außerdem starben die Mäuse zwischen dem 3. und 12. Tag (Durchschnitt 8,1) nach der Behandlung, während sie nach einer Ansteckung mit dem Stamm Hd 1312 frühestens am 8. Tag (Durchschnitt 11,3) und nach der Behandlung mit ALS nach durchschnittlich 14,3 Tagen verendeten.

Ebenso wie FRENKEL (1957), der Stickstofflost benutzte, war es auch mir nicht möglich, mit dem zur gleichen Gruppe der Zytostatika gehörenden Cyclophosphamid eine bereits ausgebildete Immunität zu durchbrechen. Zu demselben Ergebnis gelangte ich bei der Verwendung von Azathioprin. Dieser Effekt ist durchaus erklärlich, da beide Substanzen nur auf in der Entwicklung befindliche Zellen einen Einfluß haben, nicht jedoch auf ausdifferenzierte. Sie sind zwar in der Lage, die Ausbildung einer Immunität bei gleichzeitiger Ansteckung mit Toxoplasmen zu hemmen, wie STAHL und Mitarb. (1966) mit 6-Mercaptopurin, das dem Azathioprin verwandt ist, nachwiesen, haben aber keinen Einfluß auf eine bestehende Immunität.

Antilymphozytenserum (ALS) war die einzige Substanz, mit der ich die Immunität bei latenten Toxoplasma-Infektionen unterdrücken konnte. Ähnliches hatten bereits O'CONNOR und NOZIK (1968) beim Kaninchen gezeigt, als sie durch Applikation von ALS eine latente Infektion im Auge in eine akute Retinochorioiditis verwandelten. Bei meinen Versuchen verendeten alle latent mit den virulenten Stämmen L, BK und S 93 sowie alle mit dem "avirulenten" Stamm Hd 1312 angesteckten Mäuse nach der ALS-Behandlung. Bei den mit den avirulenten Stämmen Ktz 1983, Ka 1 und Sf 23/22 infizierten Tieren zeigte sich nur ein vorübergehender Aszites, jedoch traten keine Todesfälle auf.

Zusammenfassend kann gefolgert werden, daß für Mäuse virulente in die latente Phase überführte Toxoplasmastämme durch die Behandlung mit ALS reaktiviert werden können, während latente Infektionen mit avirulenten Toxoplasmastämmen mit Ausnahme des Hd 1312-Stammes nicht zu beeinflussen sind.

Die in meinen Versuchen deutlich gewordene Unterdrückbarkeit der Prämunität bei Toxoplasmainfektionen bestätigt den von FRENKEL (1967) durch Zellübertragung erbrachten Nachweis, daß die Immunität gegen diese Protozoenart vom zellulären, durch sensibilisierte Lymphozyten vermittelten Typ ist.

V. Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen über den Einfluß von immunsuppressiven Substanzen auf latente Infektionen mit verschiedenen Toxoplasmastämmen bei der Maus durchgeführt.

Die latente Infektion wurde bei den 3 virulenten Stämmen L, BK und S 93 durch eine 10-tägige Therapie mit Sulfadiazin und Pyrimethamin erreicht, während sie sich bei den 4 avirulenten Stämmen Hd 1312, Ktz 1983, Ka 1 und Sf 23/22 normal entwickelt.

Die latente Infektion konnte bei den virulenten sowie bei den Stämmen Ktz 1983, Ka 1 und Sf 23/22 durch eine 20-tägige orale Dexamethasonbehandlung (täglich 1,0 oder 0,1 mg/kg KGW) oder eine einmalige s.c. Paramethasoninjektion (1mg/Maus) nicht reaktiviert werden.

Auch durch Azathioprin- (oral 20 Tage lang täglich 20 bzw. 60 mg/kg KGW) oder eine Cyclophosphamidbehandlung (einmal 200 mg/kg KGW oder 10 Tage lang täglich 20 bzw. 40 mg/kg KGW i.p.) konnte die Prämunität nicht unterdrückt werden.

In Kaninchen gewonnenes Mäuse-Antilymphozytenserum (viermal mit 3-tägigem Abstand 0,5 ml i.p.) war die einzige Substanz, die die Immunität unterdrückte und so die latente Infektion mit den virulenten Toxoplasmastämmen L, BK und S 93 und dem avirulenten Stamm Hd 1312 in eine akute, zum Tode führende Erkrankung wandelte. Es wurden Trophozoiten im vermehrten Peritonealexsudat sowie Leber- und Milzveränderungen gefunden. Bei den mit den avirulenten Stämmen Ktz 1983, Ka 1 und Sf 23/22 infizierten Mäusen zeigte sich nach der Applikation von ALS nur ein vorübergehender Aszites ohne Toxoplasmen, alle Mäuse überlebten.

INVESTIGATIONS INTO THE INFLUENCE OF IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS ON LATENT TOXOPLASMA INFECTIONS IN NMRI-MICE

Summary

The effect of immunosuppressive substances on latent infections in mice with 7 different Toxoplasma strains was investigated.

To permit the development of latent infections with 3 virulent strains L, BK and S 93 the mice were treated for 1o days with sulfadiazine and pyrimethamine. With the 4 avirulent strains Hd 1312, Ktz 1983, Ka 1, and Sf 23/22 latent infections developed normally in mice.

It was not possible to reactivate infections in mice carrying latently the strains L, BK, S 93, Ktz 1983, Ka 1, and Sf 23/22 by a dexamethasone treatment (1.0 or 0.1 mg/kg body weight orally daily for 2o days) or by a single injection of paramethasoneacetate (1 mg/mouse s.c.).

Also by a treatment with azathioprine (2o or 60 mg/kg orally daily for 20 days) or cyclophosphamide (one time 200 mg/kg or 10 days 20 or 40 mg/kg daily i.p.) immunity could not be suppressed.

Mice antilymphocytic serum raised in rabbits (0.5 ml i.p. every third day for 4 times) was the only substance capable to suppress immunity. In all mice infected with the virulent strains L, BK, S 93, and the avirulent strain Hd 1312 the infection became acute and deaths of all animals resulted. Toxoplasma organisms could be detected in the peritoneal fluid, which was increased. Liver and spleen showed pathological alterations. Mice infected with the avirulent strains Ktz 1983, Ka 1, and Sf 23/22 and treated with ALS showed only temporary ascites. All animals survived.

VI. Literaturverzeichnis

1. Bernard,J.,M.Boiron, J.P.Lévy, J.Ripault, G.Desmonts (1962): Toxoplasmose généralisée, associée à une leucémie aiguë. Nouv. Revue fr. Hémat. 2, 910 - 914

2. Cheever,A.W., M.P.Valsamis, A.S.Rabson (1965): Necrotizing toxoplasmic encephalitis and herpetic pneumonia complicating treated Hodgkin's disease. New Engl. J. Med. 272, 26 - 29

3. Erichsen,S., A.Harboe (1953): Toxoplasmosis in chickens I. An epidemic outbreak of toxoplasmosis in a chicken flock in south-eastern Norway. Acta. path. microbiol. scand. 33, 56 - 71

4. Erichsen,S., A.Harboe (1955): Toxoplasmosis in chickens, in: VI. International Congress for Microbiology, Roma 1953, Sub-Section Toxoplasmosis

5. Frenkel,J.K. (1956): Pathogenesis of toxoplasmosis and of infections with organisms resembling Toxoplasma. Ann. N. Y. Acad. Sci. 64, 215 - 251

6. Frenkel,J.K. (1957): Effects of cortisone, total body irradiation, and nitrogen mustard on chronic, latent toxoplasmosis. Am. J. Path. 33, 618 - 619

7. Frenkel,J.K. (1960): Evaluation of infection-enhancing activity of modified corticoids. Proc. Soc. exptl. Biol. Med. 103, 552 - 555

8. Frenkel,J.K. (1967): Adoptive immunity to intracellular infection. J. Immun. 98, 1309 - 1319

9. Giroud,F., M.Capponi, N.Dumas (1962): De la maladie inapparente a la maladie mortelle chez le rat blanc infecté par Toxoplasma gondii et traité aux stéroides synthétiques. Bull. Soc. Path. exot. 55, 335 - 339

10. Havlik,O., J.Hübner, M.Zástěra (1955): The influence of cortisone in experimental toxoplasmosis in the white mouse. Csl. Parasit. 2, 75 - 81

11. Hecht,B. (1970): Untersuchungen über die Fähigkeit der Zystenbildung virulenter Toxoplasmastämme. Vet. med. Diss. FU Berlin

12. Huldt,G. (1966): Experimental toxoplasmosis. Effect of cortico-steroids on rabbits with varying degree of immunity. Acta path. microbiol. scand. 68, 605 - 621

13. Jacobs,L., M.L.Melton (1953): The effect of cortisone in murine toxoplasmosis. J. Parasit. 39, Suppl.12

14. Kaufman,H.E. (1960): The effect of corticosteroids on experimental ocular toxoplasmosis. Am. J. Ophth. 50, 919 - 926

15. Kean,B.H., A.C.Kimball (1966): Experimental alterations of the immune mechanisms in toxoplasmosis. Proc. 1. Int. Congr. Parasit.,Rome 1964,Pergamon Press, Oxford, London, u.a. S. 179 - 180

16. Levey,R.H., P.B.Medawar (1966): Some experiments on the action of antilymphoid antisera. Ann. N.Y. Acad. Sci. 129, 164 - 177

17. Metzger,E., A.Przerwa-Tetmajer, Z.Wojciechowski (1963): The influence of zymosan, cortisone and x-rays on the course of experimental toxoplasmosis in white rats. Archwm. Immun. Terap. doświad. 11, 227 - 233

18. O'Connor,G.R., R.A.Nozik (1968): Studies on mechanisms responsible for the reaction of toxoplasmic lesions in the eye. Abstr. Rev. 8th Int. Congr. Trop. Med. Malaria, Teheran, Addendum Nr. 2, 55

19. Reynolds,E.S., K.W.Walls, R.I.Pfeiffer (1966): Generalized toxoplasmosis following renal transplantation. Report of a case. Archs intern. Med. 118, 401 - 405

20. Sabin,A.B., H.A.Feldman (1948): Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite. Science 108, 660 - 663

21. Stahl,W., H.Matsubayashi, S.Akao (1966): Murine toxoplasmosis: Development of bizarre clusters of cysts. Jap. J. Parasitol. 15, 44 - 47

22. Wildführ,G. (1957): Tierexperimentelle Immunitätsversuche mit Toxoplasma gondii. Z. Immun Forsch. exp. Ther. 13, 435 - 452

23. Winsser,J., J.D.Verlinde, P.H.van Thiel, J.Davel, P.van der Elst (1948): Isolation of Toxoplasma from cerebrospinal fluid of a living infant in Holland. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 67, 292 - 294 .

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. J. Boch, danke ich für die Überlassung des Themas und die stets gewährte Unterstützung. Mein Dank gilt weiterhin Herrn Dr. M. Rommel und Herrn Dr. G. Weiland, deren sachkundiger Rat wesentlich zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Lebenslauf

Am 9.10.42 wurde ich als Sohn des Hauptmanns Friedrich Centurier und seiner Ehefrau Ursula geb. Rademacher in Kosten/Warthegau geboren.

Von 1949 bis 53 besuchte ich die Grundschule Nordstadt in Hannover und anschließend bis 57 das Gymnasium "Lutherschule". Im März 1963 bestand ich in Köln am Albertus-Magnus-Gymnasium die Reifeprüfung. Zum Sommersemester 63 immatrikulierte ich mich an der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Zum Wintersemester 64/65 wechselte ich zur Freien Universität Berlin über, wo ich im September 66 das Physikum und im Dezember 69 das Staatsexamen ablegte.

Im Januar 1969 heiratete ich die Tierärztin Helga Gaßmann.